Manual de uso para el tratamiento de imágenes

Nota: una copia actualizada de este manual debería poder obtenerse en http://imagen.fundacioace.com

1. Generalidades

El flujo de tratamiento usa fundamentalmente dos herramientas: Freesurfer (Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging) y FSL (Analysis Group, FMRIB, Oxford, UK).
El proceso consta de varios pasos para ir desde las imágenes DICOM hasta las métricas de estudio y lo que se ha construido es un forma fácil (más o menos) y probada (mmm, casi) de ir realizando los pasos necesarios.
Se ha dividido en varios pasos el proceso para permitir que se revise el éxito o fracaso de cada uno e intentar corregir los problemas que vayan surgiendo.

1.1. Ejecución remota (**Importante**)

Dado que la ejecución de los scripts puede demorar un tiempo considerable se recomienda utilizar un manager de sesión que sea inmune al cierre de sesión. Puede utilizarse *nohup*,

```
[user@detritus ~]# nohup comando > archivo_de_salida &
```

o bien *screen*,

```
[user@detritus ~]# screen bash
[user@detritus ~]# comando
```

Se recomienda leer las páginas de manual de aquel que se vaya a utilizar.
Cualquier duda, problema, carencia, sugerencia o comentario: osotolongo@fundacioace.com

1.2. Opciones comunes

Todos los scripts descritos en este manual tienen una ayuda mínima que puede verse escribiendo,

```
[user@detritus ~]# comando -h
```

Previendo que la demora de ejecución de los scripts, estos se han configurado de tal forma que envían un email avisando que el proceso ha terminado. Además algunos scripts envían los resultados por email. Si no queremos recibir los resultados como adjunto, la opción *-l* hace que el script envíe un email de aviso pero sin adjuntos. Por otra parte, algunos scripts tienen la opción de enviar los logs por email con la opción *-a*.

1.3. Flujo recomendado (leer manuales es aburrido)

Configurar el estudio:

```
make_std.pl estudio
```

Cargar las imágenes DICOM:

```
raw2nii.pl estudio directorio/donde/estan/los/DICOM/
```

Convertir a FreeSurfer los MRI:

```
fsl2fs.pl estudio
```

Procesar y revisar las MRI:

```
precon.pl estudio
check_fs_run.pl estudio
```

Obtener las métricas MRI:

```
mri_metrics.pl estudio
```

Registrar PET al espacio MNI:

```
pet_reg.pl -e estudio
```

En caso de que sea necesario, extraer los cerebros donde el registro no ha ido bien:

```
just_brain.pl -e estudio -cut cuts.csv
```

y ejecutar de nuevo el registro sólo en estos sujetos:

```
pet_reg.pl -e estudio -cut cuts.csv
```

Obtener las métricas PET:

```
pet_metrics.pl estudio
```

Registrar DTI al espacio FMRIB:

```
dti_reg.pl estudio
```

Obtener las métricas DTI:

```
dti_metrics.pl estudio
```

2. Configuración del experimento

El primer paso es crear el estudio en cuestión a realizar. Para son necesarios dos pasos. Primero ejecutar el comando,

```
make_std.pl estudio
```

Este comando crea, entre otras cosas, un directorio con el nombre del estudio que será en adelante el espacio de trabajo.
Luego debe crearse un archivo con los códigos y la clasificación de cada paciente (ad, mci, con) a analizar en formato CSV y separados por punto y coma. Ejemplo:

```
...
0095;con
0096;mci
0097;ad
0098;mci
0099;ad
0100;mci
0101;ad
0102;mci
0103;mci
0104;ad
0105;con
0106;ad
0107;ad
0108;ad
0109;mci
0110;mci
0111;mci
0112;mci
...
```

Los códigos deben ser un conjunto de 4 caracteres numéricos y la clasificación un conjunto de entre 1 y 4 caracteres alfabéticos. Este archivo debe ubicarse dentro del directorio del estudio, creado anteriormente (*data/**estudio**/*).

3. DICOM a NIfTI-1

Para llevar un grupo de imágenes DICOM al formato inicial de trabajo es necesario copiar las imágenes DICOM dentro de un directorio (preferiblemente fuera del directorio *data/*) con el código del paciente. Este código debe ser idéntico al que se ha creado en el archivo CSV.

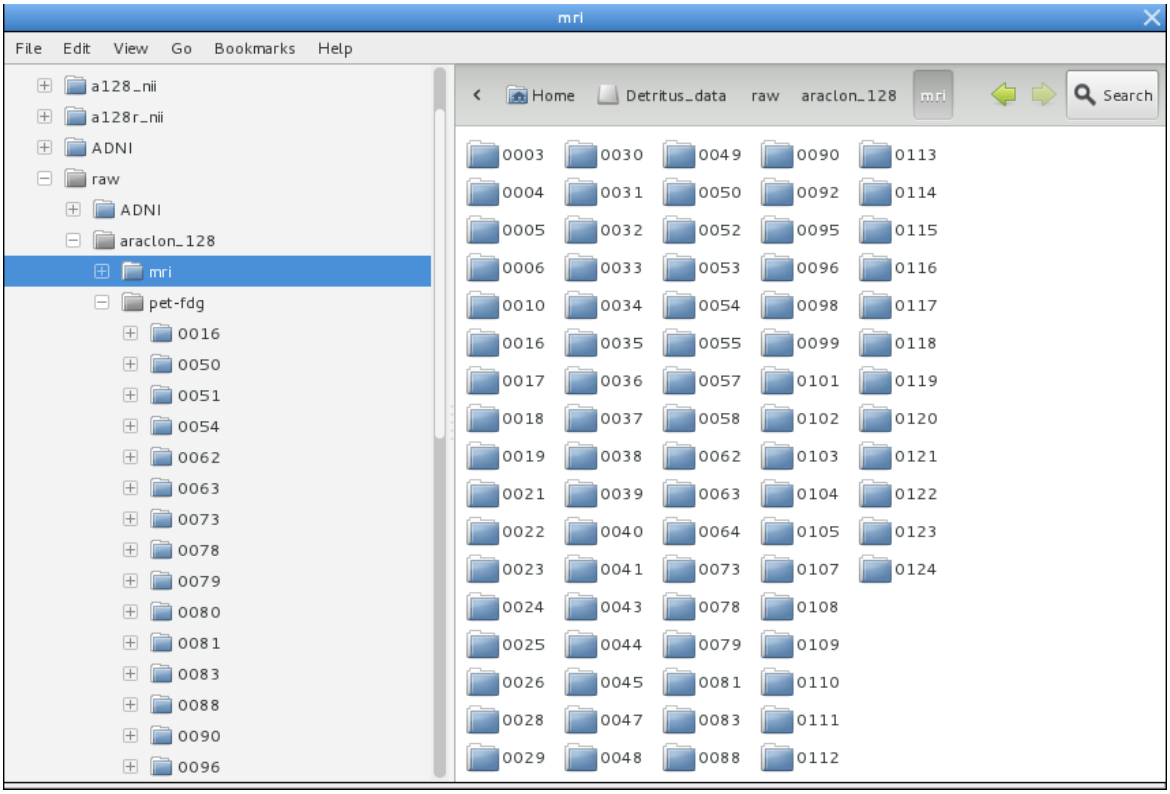


Figura 1: Organización de las imágenes DICOM

Tras esto basta correr el comando:

```
raw2nii.pl estudio directorio/donde/estan/los/DICOM/
```

El script es capaz de recorrer el árbol de directorios y encontrar las imágenes MRI, DTI y PET-FDG que estén en ellos. Las imágenes quedan almacenadas dentro del directorio correspondiente al estudio y son nombradas según clasificación, código y serie.
Tras finalizar la importación debe verificarse que dentro del directorio del estudio se han creado las carpetas correspondientes y los archivos se han importado correctamente.

Opcional: Esta herramienta es capaz de exportar las MRI a formato Analyze y organizarlas por directorios. Las opciones pueden consultarse con

```
raw2nii.pl -h
```

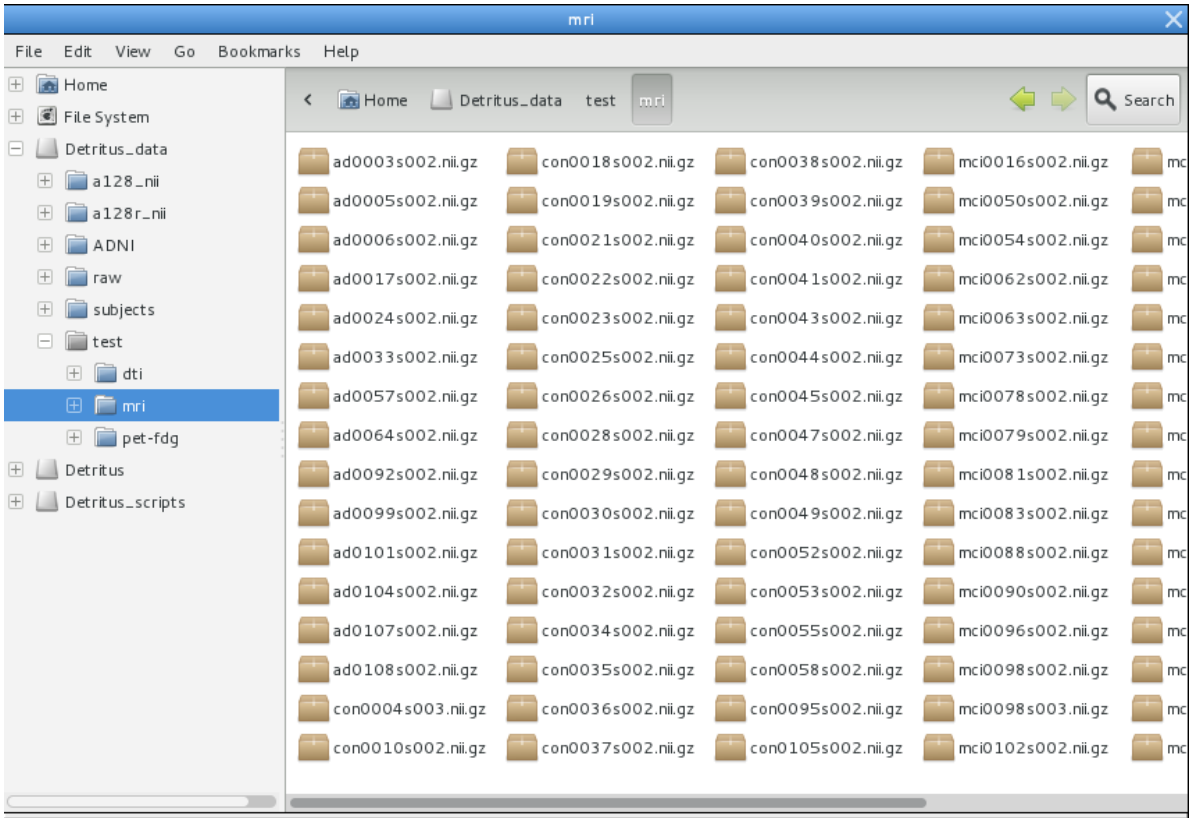


Figura 2: Imágenes convertidas dentro del estudio

4. NIfTI-1 a FreeSurfer

Para la extracción de métricas de las imágenes MRI estas deben convertirse a FreeSurfer. Esto se hace con el comando,

```
fsl2fs.pl estudio
```

Este comando crea la estructura necesaria y convierte las imágenes del estudio en formato FreeSurfer.

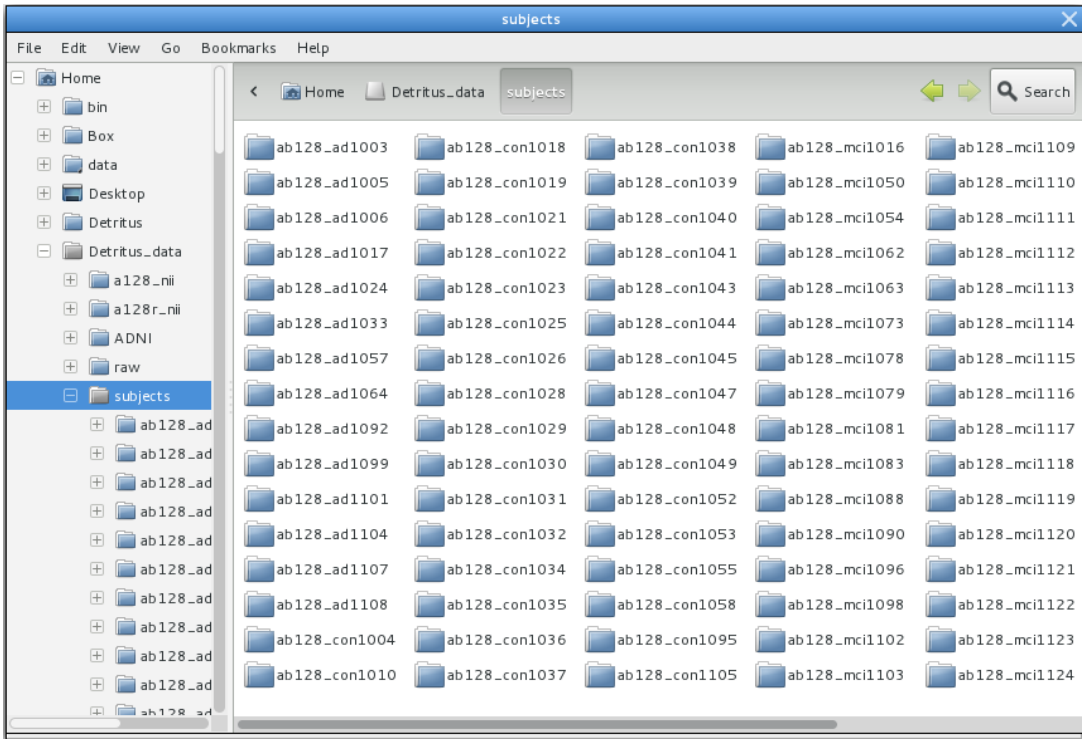


Figura 3: Directorio de sujetos de FreeSurfer

Tras ejecutarlo debe revisarse que dentro del direcotrio de trabajo de FreeSurfer *(data/subjects/)* se han creado los direcotrios correspondientes a los sujetos del estudio.

5. Procesamiento de las MRI

Para extraer las métricas se ha de correr el comando,

```
precon.pl estudio
```

El proceso de cálculo puede tomar varios días, dependiendo de la cantidad de sujetos del estudio.
Las métricas de cada sujeto quedan alojadas en *data/subjects/estudio_sujeto/stats/*

5.1. Chequeo de errores de FreeSurfer

Una vez que el proceso de extracción de métricas haya terminado se debe revisar que no ha habido errores en su ejecución. Para ello se ejecuta el comando,

```
check_fs_run.pl estudio
```

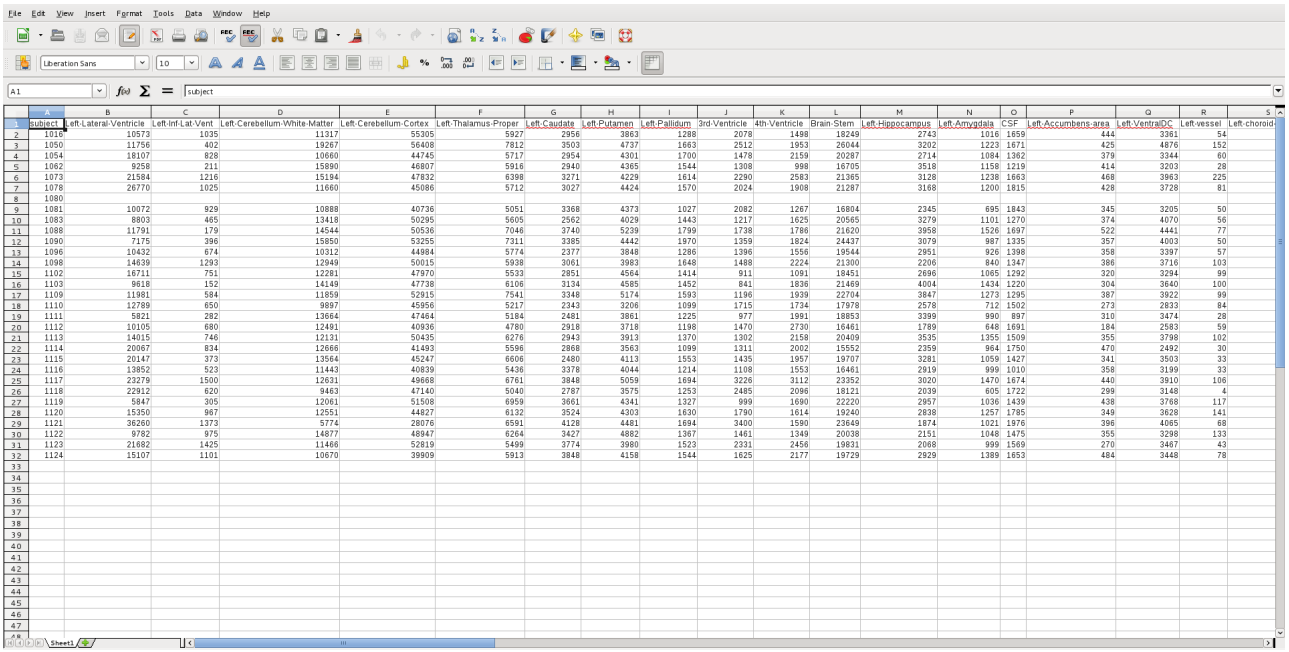
La salida del comando nos dirá en que sujetos ha habido errores y que archivo debemos mirar con más atención.

5.2. Obtención de métricas

El comando para obtener las métricas calculadas es,

```
mri_metrics.pl estudio
```

De esta manera se obtiene el archivo *estudio_mri.csv* con los volúmenes de cada sujeto situado en el directorio del estudio.



Subject	Left-Lateral-Ventricle	Left-Inf-Lat-Vent	Left-Cerebellum-White-Matter	Left-Cerebellum-Cortex	Left-Thalamus-Proper	Left-Caudate	Left-Putamen	Left-Pallidum	3rd-Ventricle	4th-Ventricle	Brain-Stem	Left-Hippocampus	Left-Amygdala	CSF	Left-Accumbens-area	Left-VentralDC	Left-vessel	Left-choroid
1016	10573	1035	11317	55305	5927	2956	3863	1288	2078	1498	18249	2743	1016	1659	444	3381	54	
1050	11756	402	19267	56408	7812	3503	4737	1663	2512	1953	26044	3202	1223	1671	425	4876	152	
1054	18107	828	10660	44745	5717	2954	4301	1700	1478	2159	20287	2714	1084	1362	379	3344	60	
1062	9258	211	15890	46807	5916	2940	4365	1544	1308	998	16705	3518	1158	1219	414	3203	28	
1073	21584	1216	15194	47832	6398	3271	4229	1614	2290	2583	21365	3128	1238	1663	468	3963	225	
1078	26770	1025	11660	45086	5712	3027	4424	1570	2024	1908	21287	3168	1200	1815	428	3728	81	
1080																		
1081	10072	929	10888	40736	5051	3368	4373	1027	2082	1267	16804	2345	695	1843	345	3205	50	
1083	8803	465	13418	50295	5605	2562	4029	1443	1217	1625	20565	3279	1101	1270	374	4070	56	
1088	11791	179	14544	50536	7046	3740	5239	1799	1738	1786	21620	3958	1526	1697	522	4441	77	
1090	7175	396	15850	53255	7311	3385	4442	1970	1359	1824	24437	3079	987	1235	357	4003	50	
1096	10432	674	10312	44984	5774	2377	3848	1286	1396	1556	19544	2951	926	1398	358	3397	57	
1098	14639	1293	12949	50015	5938	3061	3983	1648	1488	2224	21300	2206	840	1347	386	3716	103	
1102	16711	751	12281	47970	5533	2851	4564	1414	911	1091	18451	2696	1065	1292	320	3294	99	
1103	9618	152	14149	47738	6106	3134	4585	1452	841	1836	21469	4004	1434	1220	304	3640	100	
1109	11981	584	11859	52915	7541	3348	5174	1593	1196	1939	22704	3847	1273	1295	387	3922	99	
1110	12789	650	9897	45956	5217	2343	3206	1099	1715	1734	17978	2578	712	1502	273	2833	84	
1111	5821	282	13664	47464	5184	2481	3861	1225	977	1991	18853	3399	990	897	310	3474	28	
1112	10105	680	12491	40936	4780	2918	3718	1198	1470	2730	16461	1789	648	1691	184	2583	59	
1113	14015	746	12131	50435	6276	2943	3913	1370	1302	2158	20409	3535	1355	1509	355	3798	102	
1114	20067	834	12666	41493	5596	2868	3563	1099	1311	2002	15552	2359	964	1750	470	2492	30	
1115	20147	373	13564	45247	6606	2480	4113	1553	1435	1957	19707	3281	1059	1427	341	3503	33	
1116	13852	523	11443	40839	5436	3378	4044	1214	1108	1553	16461	2919	999	1010	358	3199	33	
1117	23279	1500	12631	49668	6761	3848	5059	1694	3226	3112	23352	3020	1470	1674	440	3910	106	
1118	22912	620	9463	47140	5040	2787	3575	1253	2485	2096	18121	2039	605	1722	299	3148	4	
1119	5847	305	12061	51508	6959	3661	4341	1327	999	1690	22220	2957	1036	1439	438	3768	117	
1120	15350	967	12551	44827	6132	3524	4303	1630	1790	1614	19240	2838	1257	1785	349	3628	141	
1121	36260	1373	5774	28076	6591	4128	4481	1694	3400	1590	23649	1874	1021	1976	396	4065	68	
1122	9782	975	14877	48947	6264	3427	4882	1367	1461	1349	20038	2151	1048	1475	355	3298	133	
1123	21682	1425	11466	52819	5499	3774	3980	1523	2331	2456	19831	2068	999	1569	270	3467	43	
1124	15107	1101	10670	39909	5913	3848	4158	1544	1625	2177	19729	2929	1389	1653	484	3448	78	

Figura 4: Métricas MRI

Es recomendable mirar los archivos situados en el directorio *stats* de los sujetos para tener idea de que otras estadísticas se pueden obtener.

6. Extracción independiente de cerebros **(Opcional)**

Este paso se utiliza si se pretende el análisis de las imágenes PET-FDG. Para ello se ejecuta el comando,

```
just_brain.pl -e estudio
```

Por defecto el script extrae todos los cerebros correspondientes al estudio. Para ahorrar tiempo es preferible extraer sólo aquellos cerebros sobre los cuales se vaya a realizar el registro posterior de las imágenes PET. Esto se hace con la opción,

```
just_brain.pl -e estudio -pet
```

Después de esto se ha de mirar el informe de extracción que elabora la herramienta en *data/**estudio**/working/brains/index.html*.

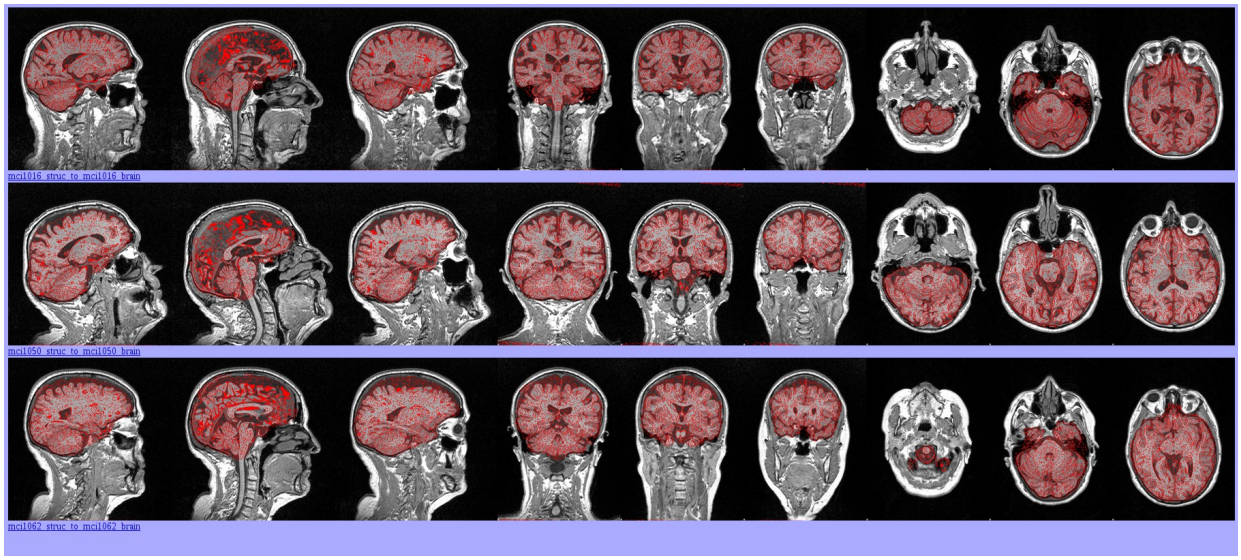


Figura 5: Informe de la extracción de cerebros independiente

En caso de que alguna extracción quede mal el procedimiento normal es quitar a la imagen parte del cuello y ejecutar la extracción nuevamente. Para ello puede crearse un archivo indicando la cantidad de *slices* que deben de extraerse de cada imagen para su nuevo procesamiento y correr el comando,

```
just_brain.pl -e estudio -cut cuts.csv
```

siendo cuts.csv el archivo que hemos creado.
El formato de cada línea es *sujeto;numero_de_slices* pero el comportamiento del script varía en dependencia del archivo. Por ejemplo, si se ejecuta el comando anterior con el siguiente archivo,

1016;
1050;0
1062;20

Entonces las imágenes de los sujetos 1016 y 1050 se reprocesarán por completo sin quitar ningún *slice* pero a la imagen del sujeto 1062 se le quitarán 20 *slices* de la región inferior antes de procesarlo. Si queremos que alguna imagen no se reprocese basta con no incluirla el el fichero de cortes y el script la ignorará.

7. Registrar PET-FDG al espacio MNI

El primer paso para analizar las imágenes PET-FDG entre ellas es registrarlas a un espacio común (Hemos elegido el espacio MNI). Para ello es necesario tener las imágenes MRI y sus correspondientes cerebros extraídos.
Esto puede hacerse de dos formas diferentes. La primera es correr el análisis completo de las MRI. El script es capaz de buscar y convertir las imágenes necesarias y copiarlas al directorio de trabajo (data/***estudio***/working/).
De no haber corrido el análisis de las MRI pueden extraerse los cerebros utilizando el punto anterior de este manual.
Una vez decidida la forma de proceder el comando a utilizar es,

```
pet_reg.pl -e estudio
```

esto dará como resultado el registro de los PET-FDG en unidades **Bq/ml**.

Es posible limitar el número de sujetos utilizando la opción -*cut* como en el script de extracción independiente.

```
pet_reg.pl -e estudio -cut cuts.csv
```

Esto se ha pensado para realizar el registro de los PET tras realizar la extracción de métricas de FreeSurfer, revisar, ejecutar la extracción de cerebros sólo en los sujetos donde se haya detectado problemas con el registro de los PET y correr nuevamente el registro PET sólo en estos sujetos (ver **Flujo recomendado**).

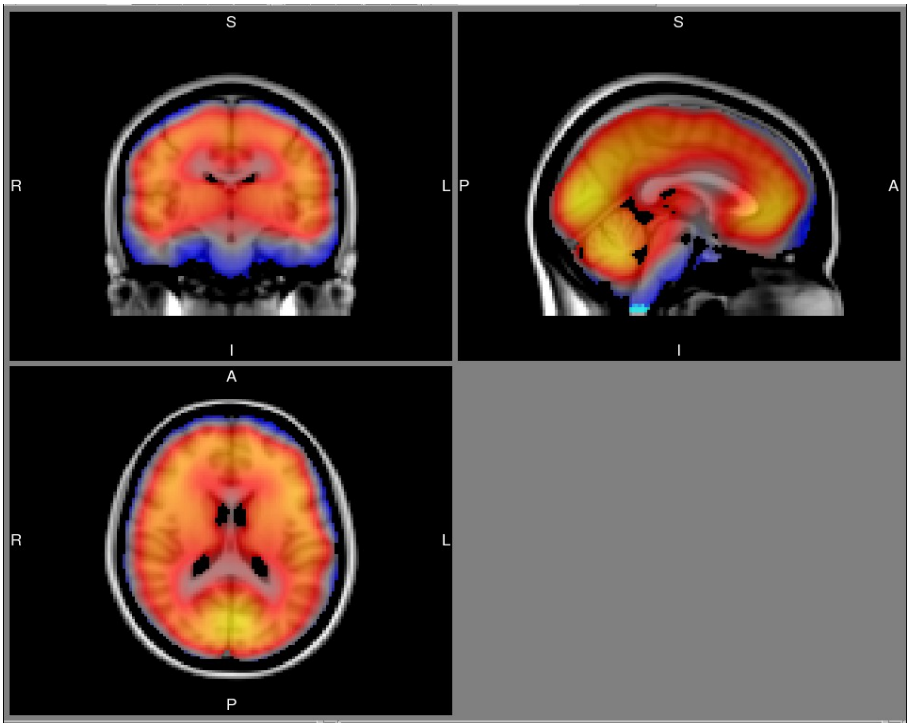


Figura 6: Registro de un PET-FDG al espacio MNI

7.1. Unidades SUV **(Opcional)**

Es posible obtener este mismo análisis en unidades SUV (Standarized Uptake Value) bajo ciertas condiciones. Si se ha partido de las imágenes DICOM y estas tienen los datos necesarios, el script inicial es capaz de producir las imágenes en unidades SUV dentro del directorio *data/**estudio**/pet-fdg*. En este mismo directorio se guarda un archivo con estos datos ([clase] [sujeto]s[serie].dat). Este archivo tiene el formato siguiente,

```
RTD: 310800000
RPST: 093500.000000
ST: 101421.000000
RHL: 6586.2001953125
PW: 60
decay: 0.434471622263023
CF: 0.000444333261732163
```

siendo su significado el de la tabla siguiente,

Variable	**Parámetro**
RTD	Dosis total de Radionúcleo
RPST	Tiempo de inicio radiofarmacéutico
ST	Tiempo del escaner
RHL	Tiempo de vida media del Radionúcleo
PW	Peso del paciente (en Kg)
decay	Decaimiento de la dosis **(Calculado)**
CF	Factor de conversión **(Calculado)**

Tabla 1: Parámetros para conversión a unidades SUV

De querer obtener los resultados en unidades SUV debe revisarse que al menos el factor de conversión este en cada uno de los ficheros correspondientes.
El factor de conversión se calcula según la expresión,

$$decay = 2^{\frac{RPST - ST}{RHL}}$$

$$CF = \frac{PW}{RTD * decay}$$

Las imágenes que no cuenten con estos datos serán excluidas del análisis.
Tras esto el análisis de realiza con el comando,

```
pet_reg.pl -suv -e estudio
```

En algunos casos se ha detectado que puede haber algún problema con los pesos incluidos en los archivos DICOM, ya sea porque estos no existen o son incorrectos. Aunque en este caso basta con editar los archivos *.dat* correspondientes a cada imagen, se ha añadido la opción *-w* que permite asignar un archivo independiente con los pesos de cada sujeto. Este archivo debe tener el mismo formato csv ya descrito anteriormente asignando a cada sujeto su peso en kilogramos:

1016; 48
1050; 60
1062; 75

A partir de aquí basta correr el script indicando el archivo correspondiente. Por ejemplo, si los datos anteriores se guardan en *data/**estudio**/pesos.csv*, basta indicar,

```
pet_reg.pl -w pesos.csv -suv -e estudio
```

y el script ignorará los pesos escritos en los archivos *.dat* para los sujetos 1016, 1050 y 1062 tomándolos de *pesos.csv* para su conversión a unidades SUV.

7.2. Revisión del registro de las PET-FDG

El script de registro en el espacio MNI produce además un informe de dicho registro en el archivo *data/**estudio**/working/pets/index.html* que puede consultarse para comprobar que el registro de todas las imágenes se haya producido satisfactoriamente.

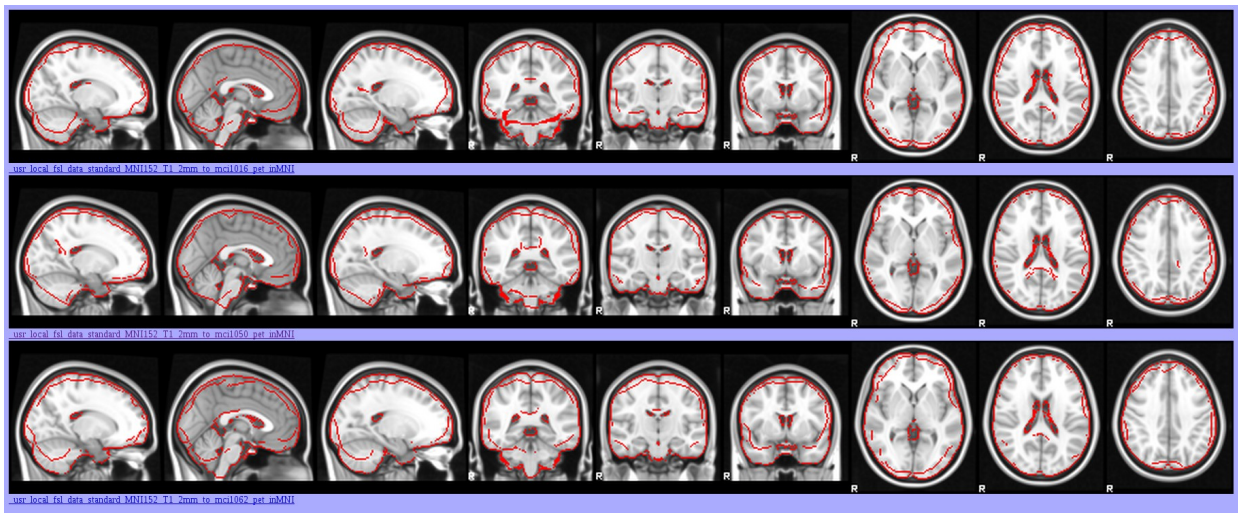


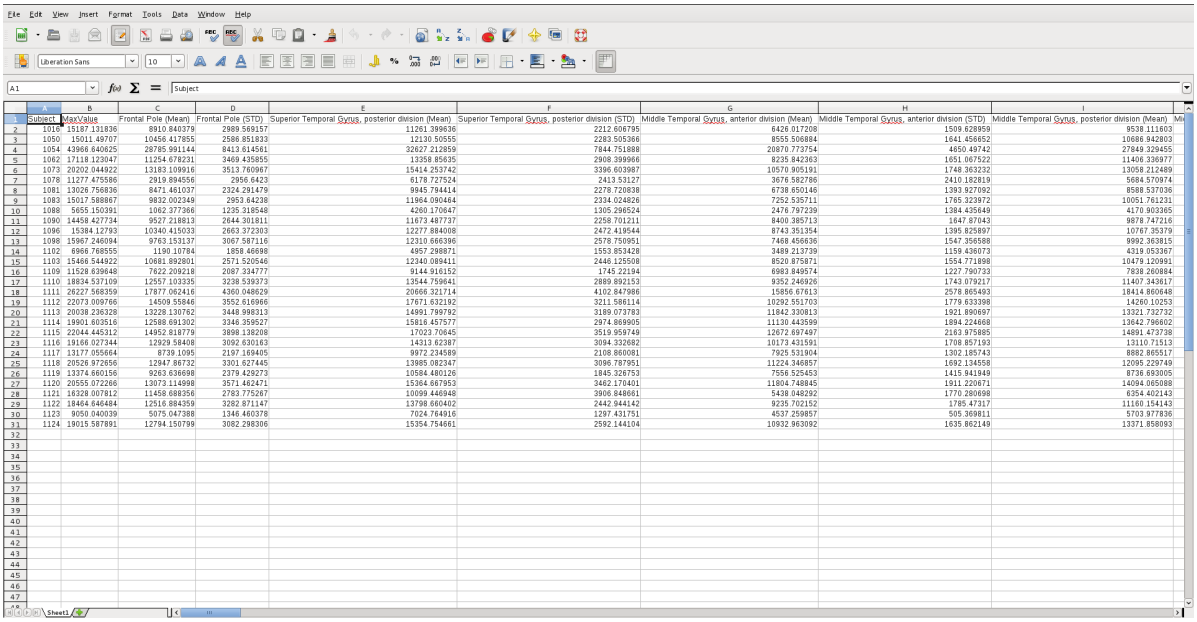
Figura 7: Informe del registro de los PET-FDG al espacio MNI

7.3. Obtener estadísticas PET-FDG

Tras registrar los PET-FDG es posible obtener la actividad media de las regiones descritas por el Atlas de Harvard-Oxford corriendo el comando,

```
pet_metrics.pl estudio
```

Este comando obtiene las métricas de todos los PET-FDG registrados y las copia en el archivo *estudio_pet.csv*, situado en el directorio del estudio.



Subject	MaxValue	Frontal Pole (Mean)	Frontal Pole (STD)	Superior Temporal Gyrus, posterior division (Mean)	Superior Temporal Gyrus, posterior division (STD)	Middle Temporal Gyrus, anterior division (Mean)	Middle Temporal Gyrus, anterior division (STD)	Middle Temporal Gyrus, posterior division (Mean)
1010	15187.131836	8910.840379	2989.569157	11261.399636	2212.606795	6426.017208	1509.828959	9538.111603
1050	15011.49707	10456.417855	2586.851833	12130.50555	2283.505366	8555.506884	1641.456652	10686.942803
1054	43966.640625	28785.991144	8413.614561	32627.212859	7844.751888	20970.773754	4650.49742	27849.329455
1062	17118.123047	11254.678231	3469.435855	13258.85635	2908.399966	8235.842363	1651.067522	11406.336977
1073	20202.044922	12183.109916	3513.760967	15414.253742	3396.603987	10570.905191	1748.363232	13058.212489
1078	11277.475586	2919.894556	2956.6423	6178.727524	2413.53127	3676.582786	2410.182819	5684.570974
1081	13026.756836	8471.461037	2324.291479	9945.794414	2278.720838	6738.650146	1393.927092	8588.537036
1083	15017.588867	9832.002349	2953.64238	11964.090444	2334.024826	7252.535711	1765.323972	10051.761231
1088	5655.150391	1062.377366	1235.318548	4260.170647	1305.296524	2476.797239	1384.435649	4170.903365
1090	14458.427734	9527.218813	2644.301811	11673.487737	2258.701211	8400.385713	1647.87043	9878.747216
1096	15384.12793	10340.415033	2663.372303	12277.884008	2472.419544	8743.351354	1395.825897	10767.35379
1098	15967.246094	9763.153137	3067.587116	12310.666396	2578.750951	7468.456636	1547.356588	9992.363815
1102	6966.768555	1190.10784	1858.46698	4957.298871	1553.853428	3489.213739	1159.436073	4319.053367
1103	15466.544922	10681.892801	2571.520546	12340.089411	2446.125508	8520.875871	1554.771898	10479.120991
1109	11528.639648	7622.209218	2067.334777	9144.916152	1745.22194	6983.849574	1227.790723	7838.260884
1110	18834.537109	12557.103335	3238.539373	13544.759641	2889.892153	9352.246926	1743.079217	11407.343617
1111	26227.568359	17877.062416	4360.048629	20666.321714	4102.847986	15856.67613	2578.865493	18414.860648
1112	22073.009766	14509.55846	3552.616966	17671.632192	3211.586114	10292.551703	1779.633398	14260.10253
1113	20038.236328	13229.130762	3448.998313	14991.790792	3189.073783	11842.330813	1921.890697	13321.732732
1114	19901.603516	12588.691302	3346.359527	15816.457577	2974.869905	11130.443599	1894.224668	13642.796602
1115	22044.445312	14952.818779	3898.138208	17023.70645	3519.959749	12672.697497	2163.975885	14891.473738
1116	19166.027344	12929.58408	3092.630163	14313.62387	3094.332682	10173.431591	1708.857193	13110.71513
1117	13177.055664	8739.1095	2197.169405	9972.234589	2108.860081	7925.531904	1302.185743	8882.865517
1118	20526.972656	12947.86732	3301.627445	13985.082347	3096.787951	11224.346857	1692.134558	12095.229749
1119	13374.660156	9263.636698	2379.429273	10584.480126	1845.326753	7556.525453	1415.941949	8736.693005
1120	20555.072266	13073.114998	3571.462471	15384.667953	3462.170401	11804.748845	1911.220671	14094.065088
1121	16328.007812	11458.688356	2783.775267	10099.446948	3906.848661	5438.048292	1770.280698	6354.402143
1122	18464.646484	12516.884359	3282.871147	13798.660402	2442.944142	9235.702152	1785.47317	11160.154143
1123	9050.040039	5075.047388	1346.460378	7024.764916	1297.431751	4537.259857	505.369811	5703.977836
1124	19015.587891	12794.150799	3082.298306	15354.754661	2592.144104	10932.963092	1635.862149	13371.858093

Figura 8: Métricas de las imágenes PET-FDG

El análisis de los PET-FDG se haya realizado en unidades Bq/ml o SUV puede querer normalizarse a valores entre 0 y 1 por lo que se ha incluido en la primera columna de valores el máximo de la actividad medida.

7.4. Métricas en el espacio Original (Opcional)

Además de las métricas según el atlas de Harvard-Oxford, es posible obtener las métricas en el espacio original, para las mismas regiones en las que Freesurfer ha calculado la volumetría de la materia gris. Para ello se ejecuta,

```
pet_fs_metrics.pl estudio
```

que deja el archivo *estudio_pet_fs.csv* en el directorio de trabajo con dichas métricas.

Nota: Este procedimiento es bastante más lento que el anterior y requiere que las imágenes procesadas por freesurfer sean exactamente las mismas en las que se ha registrado la imagen PET. Esto es, si ha sido necesario el recorte manual de alguna imagen MRI para el registro de la imagen PET, esta imagen MRI recorta deberá volver a procesarse con freesurfer, en lugar de la imagen original.

7.5. Normalización por cerebelo

Las métricas obtenidas, ya sea según el atlas Harvard-Oxford o la segmentación de FreeSurfer pueden obtenerse normalizadas por la actividad media del cerebelo. Para ello basta ejecutar los scripts con la opción *-cn*,

```
pet_metrics.pl -cn estudio
```

Nótese que para obtener una medida coherente las imágenes PET deben incluir completamente el cerebelo.

8. Procesamiento de imágenes DTI

Las imágenes DTI proporcionan una medida de el movimiento **ordenado** en el cerebro a través de los vectores de movimiento en cada punto. Las medidas que se usan para describir este movimiento, como la anisotropía fraccional (FA) o la difusividad media (MD), no son más que distintas definiciones de normas de estos vectores. Dado que estas medidas son equivalentes hemos escogido la FA.

El comando,

```
dti_reg.pl estudio
```

corrige, procesa y coregistra al espacio FMRIB58 cada una de las imágenes DTI del estudio.

8.1. Obtener estadísticas DTI

Se obtiene el valor medio y la desviación estandard de FA de varias regiones de materia blanca. Estas regiones son las definidas por los Atlas JHU, elaborados en la Johns Hopkins University. El script,

```
dti_metrics.pl estudio
```

extrae estas métricas y las copia en el archivo *estudio_dti.csv*, situado en el directorio del estudio.

9. Procesamiento de PET-PIB

9.1. Registro al espacio del sujeto

El procesamiento de imágenes PET-PIB es similar al de los PET-FDG con la diferencia de que el proceso de corregistro entre el PET y el MRI es más complejo. PAra ello se ha dividido este corresgistro en dos etapas. La primera de ellas y más delicada es el corregistro del PET al espacio del paciente. Para lograr esto correctamente se ha de hacer en tres pasos.
Primero se ejecuta el comando,

```
pib_reg.pl -e estudio
```

que intenta registrar el PET utilizando toda la información estructural contenida en la imagen

MRI. Este paso genera un informe que puede consultarse en *data/**estudio**/working/pibs/index.html.* Este informe nos permitirá observar cuantos de los registros no han sido satisfactorios y necesitan el segundo paso.
Para este segundo paso debemos crear un archivo *csv* con todos los sujetos que necesitamos procesar nuevamente. Este archivo deberá seguir el formato de lso archivos de corte pero con valor cero,

1016;0
1050;0
1062;0

Además, deberíamos comprobar que se ha llevado a cabo correctamente la extracción de cerebros de todos los sujetos a reprocesar. Para ello podemos apoyarnos en el comando *just_brain.pl* mencionado anteriormente.
Una vez hecho esto ejecutamos,

```
pib_reg.pl -e estudio -cut cuts.csv -useb
```

donde *cuts.csv* es el archivo que hemos creado. Este comando intenta realizar el corregistro utilizando la información estructural de los cerebros extraídos (*-useb*) y genera un informe idéntico al anterior que podemos consultar para ver si hay alguna imagen que necesite el tercer paso de procesamiento.
En caso de ser necesario un tercer paso editamos el archivo *csv* creado dejando solamente aquellos sujetos que necesitamos procesar nuevamente pero incrementando el punto de corte a un valor distinto de cero,

1016;10
1050;10

Este valor indica al comando que haga una máscara cortando el valor que hemos fijado en tanto por ciento del mayor valor de la imagen (10% en el ejemplo) e intente realizar el corregistro nuevamente. Tras esto ejecutamos,

```
pib_reg.pl -e estudio -cut cuts.csv -usem
```

Siendo *-usem* la orden que indica al programa que debe utilizar una máscara. Este proceso puede repetirse aumentando este valor pero en mi experiencia un 10 o 20 por ciento son mas que suficientes para lograr un buen corregistro. Tras revisar el informe dejado por el programa y haber realizado correctamente los corregistros podemos pasar los PET-PIB al espacio MNI.

9.2. Registro al espacio MNI

El paso al espacio MNI se realiza con la orden,

```
pib_2mni.pl -e estudio
```

y funcionará correctamente sólo si se ha efectuado satisfactoriamente el registro anterior. Este comando también acepta la orden *-cut* en caso de que deseemos reprocesar algún sujeto individual o grupo de sujetos. También generará un informe de registro, esta vez en el espacio MNI.

9.3. Métricas PET-PIB

Hay dos comandos posibles para obtener métricas PIB. Si se ha realizado el registro en el espacio MNI puede ejecutarse,

```
pet_metrics.pl -pib estudio
```

que obtiene las métricas de todos los PET-PIB registrados, según las regiones descritas por el Atlas de Harvard-Oxford, y las copia en el archivo *estudio_pib.csv*, situado en el directorio del estudio. Al igual que en los PET-FDG, es posible obtener las métricas en el espacio original, para las mismas regiones en las que Freesurfer ha calculado la volumetría de la materia gris. Para ello se ejecuta,

```
pet_fs_metrics.pl -pib estudio
```

que deja el archivo *estudio_pib_fs.csv* en el directorio de trabajo con dichas métricas o puede ejecutarse,

```
pet_fs_metrics.pl -pib -full estudio
```

que deja el archivo *estudio_pib_fs_full.csv* en el directorio de trabajo. Este última opción aprovecha una mayor segmentación de Freesurfer. O sea, da como resultado unas métricas más detalladas del cerebro.

10. Generación de informes

Para realizar los informes de extracción de cerebros o registro de PET puede utilizarse las herramientas:

```
make_brain_report.pl estudio
make_pet_report.pl estudio
```

Para utilizar ambos al unísono:

```
make_report.pl estudio
```

También puede verse un informe del resultado de la extracción de cerebros echa por FreeSurfer con el comando:

```
make_fsbrain_report.pl estudio
```

11. Como citar el procesamiento

De utilizar alguna de estas herramientas en el procesamiento de imágenes con vistas a alguna publicación deben citarse las herramientas que se usan en *foreground*,

Conversión de imágenes

Todas las imágenes fueron convertidas de formato DICOM a formato NIfTI-1 utilizando la herramienta http://www.mccauslandcenter.sc.edu/mricro/mricron/dcm2nii.htmldcm2nii, disponible online como parte de MRIcron. Al mismo tiempo las imágenes fueron anonimizadas

MRI

La reconstrucción cortical y segmentación volumétrica se realizó con la http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/suite de procesamiento de imágenes Freesurfer, documentada y disponible para su descarga online. Los detalles técnicos de estos procedimientos han sido descritos en publicaciones previas [1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12].

Este procesamiento incluye correción de movimiento y media [13] de múltiples imágenes T1 (cuando hay más de una disponible), eliminación de tejido no cerebral utilizando un procedimiento de deformación híbrido [12], transformación automática al espacio de Talairach, segmentación de la materia blanca subcortical y las estructuras de materia gris (inclutendo hipocampo, amigdala, caudado, putamen, ventrilocos) [5,9], normalización de intensidad [14], teselado de la frontera entre materia gris y blanca, corrección topológica automática [4,15], y deformación de la superficie siguiendo gradientes de intensidd para la localización óptima de los bordes de materia gris/blanca y materia gris/fluido cerebroespinal en los puntos donde la mayor diferencia en intensidad define la transición de un tejido a otro [1,2,3].

Una vez que los modelos corticales se han completado pueden realizarse procedimientos de deformación en el subsiguiente procesamiento y análisis incluyendo el inflado de la superficie [7], registro a un altas esférico que utiliza patrones corticales individualizados para encajar en la la geometría cortical de los sujetos [8], subdivisión del cortex cerebral en unidades basadas en la estructura de giros y surcos [16,9] y creación de un conjunto de superficies de datos, incluyendo mapas de curvatura y profundidad de surcos. Este método utiliza al mismo tiempo la información de intensidad y continuidad del volumen de MRI en los procedimientos de segmentación y deformación para producir representacions del grosor cortical, calculado como la distancia mas cercana de la frontera gris/blanca a la frontera gris/CSF en cada vértice de la superficie teselada [3]. Los mapas se crean con los gradientes de intensidad espacial a través de las clases de tejido y no confiando simplemente en la intensidad de señal absoluta. Los mapas creados no se restringen a la resolución de voxels del los datos originales por lo que son capaces de detectar diferencias submilimétricas entre grupos. Los procedimientos de medida

del grososr cortical han sido validados contra análisis histológicos [17] y mediciones manuales [18,19]. Los procedimientos morfométricos de Freesurfer han demostrado poseer una buena fiabilidad para varios fabricanes de equipos e intensidades de campos [10,20].

PET (FDG y PIB)

El cálculo de los valores medios y desviación estandard para las diferentes ROI fue realizado con la http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/suite de procesamiento de imágenes FSL [21,22,23], disponible online. Las diferentes secuencias de cada individuo fueron corregistradas y promediadas, corregidas y suavizadas con un kernel gaussiano de 4 mm. Las imágenes resultantes fueron corregistradas [24,25,26] en el espacio structural (MRI) tanto del individuo como en el espacio estandard MNI (Montreal Neurological Institute) [27,28,29]. Para ello se extrajo el cerebro de las imágenes estructurales [30,31], en caso necesario.

Una vez hecho el corregistro se obtuvieron dos tipos de variables, los valores medios y desviación estandard correspondientes a las ROI segmentadas por Freesurfer en el espacio del sujeto y los valores medios y desviación estandard correspondiente al atlas cortical de http://www.cma.mgh.harvard.edu/fsl_atlas.htmlHarvard-Oxford para el espacio MNI. Estos valores se normalizaron por el valor medido en el cerebelo.

Bibliografía

1 A. M. Dale, B. Fischl, and M. I. Sereno.
Cortical surface-based analysis. i. segmentation and surface reconstruction.
Neuroimage, 9:179-194, 1999.
2 A. M. Dale and M. I. Sereno.
Improved localization of cortical activity by combining eeg and meg with mri cortical surface reconstruction: a linear approach.
J Cogn Neurosci, 5:162-176, 1993.
3 B. Fischl and A. M. Dale.
Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images.
Proc Natl Acad Sci U S A, 97:11050-11055, 2000.
4 B. Fischl, A. Liu, and A. M. Dale.
Automated manifold surgery: constructing geometrically accurate and topologically correct models of the human cerebral cortex.
IEEE Trans Med Imaging, 20:70-80, 2001.
5 B. Fischl, D. H. Salat, E. Busa, M. Albert, M. Dieterich, C. Haselgrove, and Killiany R. Kennedy D. Klaveness S. Montillo A. Makris N. Rosen B. Dale A van der Kouwe, A.
Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain.
Neuron, 33:341-355, 2002.
6 B. Fischl, D. H. Salat, A van der Kouwe, N Makris, and Quinn B.T. Dale A.M Segonne, F.
Sequence-independent segmentation of magnetic resonance images.
Neuroimage, 23(Suppl 1, S):69-84, 2004.
7 B. Fischl, M. I. Sereno, and A. M. Dale.

Cortical surface-based analysis ii: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system.
Neuroimage, 9:195-207, 1999.
8 B. Fischl, M. I. Sereno, R. B. Tootell, and A. M. Dale.
High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface.
Hum Brain Mapp, 8:272-284, 1999.
9 B. Fischl, Salat D Segonne, F., E Busa, Goldstein J. Kennedy D. Caviness V. Makris N.
Rosen B. Dale A.M Seidman, L.J., and Destrieux C. Halgren E. van der Kouwe, A.
Automatically parcellating the human cerebral cortex.
Cereb Cortex, 14:11-22, 2004.
10 X. Han, J. Jovicich, D. Salat, and Quinn B. Czanner S. Busa E. Pacheco J. Albert M.
Killiany R. Maguire P. Rosas D. Makris N. Dale A. Dickerson B. Fischl B van der Kouwe, A.
Reliability of mri-derived measurements of human cerebral cortical thickness: the effects of field strength, scanner upgrade and manufacturer.
Neuroimage, 32:180-194, 2006.
11 J. Jovicich, S. Czanner, D. Greve, E. Haley, and Gollub R. Kennedy D. Schmitt F. Brown G.
Macfall J. Fischl B. Dale A van der Kouwe, A.
Reliability in multi-site structural mri studies: effects of gradient non-linearity correction on phantom and human data.
Neuroimage, 30:436-443, 2006.
12 F. Segonne, A. M. Dale, E. Busa, M. Glessner, D. Salat, H. K. Hahn, and B. Fischl.
A hybrid approach to the skull stripping problem in mri.
Neuroimage, 22:1060-1075, 2004.
13 M. Reuter, H. D. Rosas, and B. Fischl.
Highly accurate inverse consistent registration: A robust approach.
Neuroimage, 53(4):1181 - 1196, 2010.
14 J. G. Sled, A. P. Zijdenbos, and A. C. Evans.
A nonparametric method for automatic correction of intensity nonuniformity in mri data.
IEEE Trans Med Imaging, 17:87-97, 1998.
15 F. Segonne, J. Pacheco, and B. Fischl.
Geometrically accurate topology-correction of cortical surfaces using nonseparating loops.
IEEE Trans Med Imaging, 26:518-529, 2007.
16 R. S. Desikan, F. Segonne, B. Fischl, B. T. Quinn, B. C. Dickerson, D. Blacker, R. L.
Buckner, A. M. Dale, R. P. Maguire, B. T. Hyman, M. S. Albert, and R. J. Killiany.
An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on mri scans into gyral based regions of interest.
Neuroimage, 31:968-980, 2006.
17 H. D. Rosas, A. K. Liu, S. Hersch, M. Glessner, R. J. Ferrante, D. H. Salat, Jenkins B van der Kouwe, A., A M Dale, and B Fischl.
Regional and progressive thinning of the cortical ribbon in huntington's disease.
Neurology, 58:695-701, 2002.
18 G. R. Kuperberg, M. R. Broome, P. K. McGuire, A. S. David, M. Eddy, F. Ozawa, D. Goff,
W. C. West, S. C. Williams, A van der Kouwe, D Salat, and A.M. Fischl B H., Dale.
Regionally localized thinning of the cerebral cortex in schizophrenia.
Arch Gen Psychiatry, 60:878-888, 2003.
19 D. H. Salat, R. L. Buckner, A. Z. Snyder, D. N. Greve, R. S. Desikan, E. Busa, J. C. Morris,

A. M. Dale, and B. Fischl.
Thinning of the cerebral cortex in aging.
Cereb Cortex, 14:721-730, 2004.
20 M. Reuter, N. J. Schmansky, H. D. Rosas, and B. Fischl.
Within-subject template estimation for unbiased longitudinal image analysis.
Neuroimage, in print, 10:1016, 2012.
21 M. Jenkinson, C. F. Beckmann, T. E. Behrens, M. W. Woolrich, and S. M. Smith.
Fsl.
NeuroImage, 62:782-90, 2012.
22 M. W. Woolrich, S. Jbabdi, B. Patenaude, M. Chappell, S. Makni, T. Behrens, C. Beckmann, M. Jenkinson, and S. M. Smith.
Bayesian analysis of neuroimaging data in fsl.
NeuroImage, pages 173-86, 2009.
23 S. M. Smith, M. Jenkinson, M. W. Woolrich, C. F. Beckmann, T. E. J. Behrens, H. Johansen-Berg, P. R. Bannister, M. De Luca, I. Drobnjak, D. E. Flitney, R. Niazy, J. Saunders, J. Vickers, Y. Zhang, N. De Stefano, J. M. Brady, and P. M. Matthews.
Advances in functional and structural mr image analysis and implementation as fsl.
NeuroImage, 23(S1):208-19, 2004.
24 M. Jenkinson, P. Bannister, J. M. Brady, and S. M. Smith.
Improved optimisation for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images.
NeuroImage, 17(2):825-841, 2002.
25 M. Jenkinson and S. M. Smith.
A global optimisation method for robust affine registration of brain images.
Medical Image Analysis, 5(2):143-156, 2001.
26 D. N. Greve and B. Fischl.
Accurate and robust brain image alignment using boundary-based registration.
NeuroImage, 48(1):63-72, 2009.
27 VS Fonov, AC Evans, RC McKinstry, CR Almli, and DL Collins.
Unbiased nonlinear average age-appropriate brain templates from birth to adulthood.
NeuroImage, 47, Supplement 1(0):S102 -, 2009.
Organization for Human Brain Mapping 2009 Annual Meeting.
28 Vladimir Fonov, Alan C. Evans, Kelly Botteron, C. Robert Almli, Robert C. McKinstry, and D. Louis Collins.
Unbiased average age-appropriate atlases for pediatric studies.
NeuroImage, 54(1):313 - 327, 2011.
29 Günther Grabner, AndrewL. Janke, MarcM. Budge, David Smith, Jens Pruessner, and D.Louis Collins.
Symmetric atlasing and model based segmentation: An application to the hippocampus in older adults.
In Rasmus Larsen, Mads Nielsen, and Jon Sporring, editors, Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention - MICCAI 2006, volume 4191 of Lecture Notes in Computer Science, pages 58-66. Springer Berlin Heidelberg, 2006.
30 S. M. Smith.
Fast robust automated brain extraction.

Human Brain Mapping, 17(3):143-155, December 2002.
31 M. Jenkinson, M. Pechaud, and S. Smith.
Bet2: Mr-based estimation of brain, skull and scalp surfaces.
In Eleventh Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping. 2005.

Para Freesurfer puede encontrarse en inglés también aquí:
http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/FreeSurferWiki?action=AttachFile&do=get&target=freesurfer_methods.doc